

Niveles del factor de crecimiento derivado de plaquetas en el plasma rico en plaquetas antes y después de antiagregantes plaquetarios

(PDGF levels in platelet-rich plasma before and after anti platelets drugs)

Maczy González¹✉, Melvis Arteaga-Vizcaíno², Ana Ruiz³, Olga Briceño³, Maribel Quintero⁴, Ricardo Atencio², Mariluz Benito⁵, Marisol Benito⁶, Richard Flores³.

¹Jefe Cátedra de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ²Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ³Cátedra de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ⁴Práctica Profesional de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ⁵Cátedra de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad del Zulia, Venezuela. ⁶Instituto de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad del Zulia, Venezuela.

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 2 de Julio de 2013. Aceptado: 20 de Octubre de 2013.

Resumen

El PDGF es uno de los mitógenos más potentes para el tejido conectivo, su secreción parece ser particularmente importante cuando la fuente es el Plasma Rico en Plaquetas (PRP), de allí el rol protagónico de este último en la regeneración tisular. Se determinó mediante ELISA los niveles de PDGFBB en el PRP, Plasma Pobre en Plaquetas (PPP) y Exudado de 32 sujetos sanos antes y 24 horas después de ingerir AAS (Aspirina) y Clopidogrel. Los niveles basales de PDGFBB fueron de 10, 6 ± 1, 9 ng/ml (PPP), 12, 12 ± 2, 5 ng/ml (PRP) y 10, 84 ± 1, 68 ng/ml (Exudado). Mientras que después del tratamiento con AAS las concentraciones de PDGFBB estuvieron en 8, 96 ± 1, 4 ng/ml (PPP), 11, 36 ± 1, 48ng/ml (PRP), 11, 11 ± 1, 14ng/ml (Exudado) y para el Clopidogrel fueron de 8, 53 ± 0, 59 ng/ml (PPP), 9, 65 ± 1, 17 ng/ml (PRP) y 8, 51 ± 0, 75 ng/ml (Exudado). Se notó que luego de la administración de AAS y Clopidogrel los valores de PDGFBB disminuyeron de manera estadísticamente significativa, en especial para el grupo del Clopidogrel. El AAS pareció afectar en menor grado las concentraciones de PDGFBB, lo cual puede ser atribuible al mecanismo de acción farmacológica diferencial existente entre la AAS y Clopidogrel. No se encontró correlación entre el recuento plaquetario y los niveles basales de PDGFBB del PRP.

Palabras clave

Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), Plasma rico en plaquetas (PRP), Aspirina o ácido acetil salicílico (AAS), Clopidogrel (CLO).

Abstract

PDGF is one of the most potent mitogen for connective tissue, its secretion appears to be particularly important when the source is Platelet Rich Plasma (PRP), hence the latter leading role in tissue regeneration. ELISA PDGFBB levels in PRP, Platelet Poor Plasma (PPP) and exudates, were determined in 32 healthy subjects before and 24 hours after ingestion of Aspirin (ASA) and Clopidogrel (CLO). PDGFBB baseline levels were 10.6 ± 1.9 ng / ml (PPP), 12.12 ± 2.5 ng / ml (PRP) and 10.84 ± 1.68 ng / ml (exudate). After treatment with ASA concentrations were PDGFBB in 8.96 ± 1.4 ng / ml (PPP), 11.36 ± 1.48 ng / ml (PRP), 11.11 ± 1.14 ng / ml (exudate) and the Clopidogrel were 8.53 ± 0.59 ng / ml (PPP), 9.65 ± 1.17 ng / ml (PRP) and 8.51 ± 0.75 ng / ml (exudate). It was noted that after the administration of ASA and CLO, PDGFBB values statistically significantly decreased, especially for the group of CLO. ASA lesser extent appears to affect the concentrations of PDGFBB, which may be attributable to the pharmacological mechanism of action between the ASA and Clopidogrel. No correlation was found between platelet count and baseline levels of PRP PDGFBB.

Keywords

Platelet derived growth factor (PDGF), Platelet-rich plasma (PRP), acetyl salicylic acid (ASA), Clopidogrel (CLO).

✉ **Autor de correspondencia:** Maczy González Rincón, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Instituto de Investigaciones Clínicas, Universidad del Zulia, final Av. 20 al lado de la Maternidad Castillo Plaza. Teléfono: 58 261 4127225; 04246692707, Fax: 58 261 4127224; E-mail: maczy.gonzalez@gmail.com, rigonzalez@fmed.luz.edu.ve. Maracaibo, Venezuela

Introducción

Las plaquetas o trombocitos son células anucleadas discoideas de la sangre periférica de pequeño tamaño (2 a 4 μm diámetro) que tienen una función primordial en el proceso de la hemostasia normal, regeneración de tejidos y en algunos aspectos de la defensa inmunitaria. Dentro de la hemostasia normal, la hemostasia primaria es el proceso inicial de la coagulación y tiene el objeto de crear un tapón plaquetario en respuesta al daño del endotelio vascular y consiste en cuatro fases: adhesión, activación, secreción y agregación plaquetaria, su recuento normal se sitúa entre 150.000 a 450.000/ μl (1, 2).

Las plaquetas están repletas de gránulos secretorios, que son indispensables para que cumplan con sus funciones. Entre los tres tipos de gránulos secretorios se encuentran los gránulos α , gránulos o cuerpos densos y lisosomas, de ellos, los más abundantes son los gránulos α , los cuales poseen un contenido importante de proteínas, mediadores solubles tales como citoquinas, factores de crecimiento (FC), entre estos últimos, se encuentran proteínas pro y anti-angiogénicas que incluyen el factor de crecimiento vasculo-endotelial (VEGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento fibroblástico FGF, factor de crecimiento del hepatocito (HGF) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), entre otros. Todos estos FC son secretados adicionalmente por una variedad de células que participan en el proceso inflamatorio, pero la rapidez con la cual las plaquetas se acumulan en los sitios de injuria vascular las hace una fuente relevante y especial de estos mediadores mitogénicos (2).

Entre las preparaciones que aíslan y concentran las plaquetas tenemos al Plasma Rico en Plaquetas (PRP), el cual ha sido reconocido como un poderoso agente hemostático y adhesivo desde la década de 1970 (3), así como, una potente fuente de FC desde 1990 (4). El PRP es una fracción plasmática que posee una concentración de plaquetas superior de 2 a 5 veces al número de plaquetas en sangre periférica (5) El PRP se considera un concentrado de plaquetas, obtenido generalmente por centrifugación de la sangre del propio paciente a quien se le va aplicar (autólogo). Este compuesto es portador de FC naturales tanto en el plasma sin activar como en el activado con Calcio o Trombina; para estos últimos el resultado es un coágulo que contiene fibrina además de moléculas de adhesión celular (fibronectina y

vitronectina) y FC, que participan en el proceso de la coagulación, cicatrización y regeneración tisular (5-8)

La mayor cantidad de elementos contenidos en el PRP son los FCs, estos son polipéptidos considerados mediadores solubles que son producidos y secretados por la mayoría de las células del organismo en respuesta a un estímulo específico, pero son las plaquetas y los macrófagos, los que secretan la mayor proporción de FCs (9, 10)

Los primeros trabajos que apoyaron el empleo médico del PRP fueron los realizados en el área odontológica, ya que lo consideraron una fuente rica en factores de crecimiento que modulaban la proliferación celular, lo que conlleva a una exitosa regeneración del tejido periodontal (11-13).

Luego, otras ramas de la medicina asumieron esas experiencias para justificar la utilización del PRP en otras patologías, como el mostrado en pacientes con Hemofilia A, Hemofilia B, úlceras de miembros inferiores en pacientes con Diabetes Mellitus, artrosis, entre otras enfermedades (14).

Del PDGF y sus isoformas más conocidas (PDGFAA, PDGFBB y PDGFAB), se sabe que fueron purificados por Antoniades empleando electroforesis en 1981, se encuentran en elevadas concentraciones en las plaquetas, en los macrófagos y en células endoteliales vasculares y en menores concentraciones en otros tejidos. El PDGF es una proteína catiónica termoestable con un PM de 30-40 Kd, está almacenado en los gránulos α de las plaquetas y se libera cuando las plaquetas se agregan y se inicia la activación del sistema de la coagulación (15).

La función principal del PDGF es promover la quimiotaxis, es secretado por las plaquetas en el callo en el lugar de la lesión de fractura, además puede estimular el reclutamiento, proliferación, y sobrevivencia de células mesenquimales, células del músculo liso, endoteliales, fibroblastos, y otras células reparadoras; así mismo, inicia la angiogénesis del complejo capilar en procedimientos que involucran la colocación de un injerto. El efecto mitogénico sobre los osteoblastos es el reflejo de su acción primaria en el hueso (12, 16, 17).

Ahora bien, es ampliamente conocido la utilización de ciertos medicamentos que tienen efecto antiagregantes sobre las plaquetas como el ácido acetil salicílico-AAS o aspirina y el Clopidogrel/Ticlopidina (Tienopiridinas), entre otros, cuya indicación es universal en el tratamiento de pacientes con tendencia a formar trombos por diversas causas como cardiopatías congénitas o adquiridas, episodios únicos o múltiples de accidentes cerebrovasculares, entre otras enfermedades (18). Estos actúan inhibiendo la

agregación plaquetaria, reduciendo con ello el riesgo de formar un trombo plaquetario; no obstante pueden interferir con la liberación de los factores de crecimiento contenidos en los gránulos (19-22). De esa manera, en teoría, el PRP proveniente de sujetos tratados con antiagregantes plaquetarios, no sería de utilidad en las áreas de la medicina en donde ha sido probada su gran influencia en la curación y cicatrización de diversos tipos de heridas.

Dado lo anteriormente planteado, sobre el mecanismo de acción y efecto terapéutico de una droga antiagregante plaquetaria en diversas patologías médicas y el empleo del PRP para acelerar la regeneración y reparación tisular, en este trabajo se propone determinar los niveles de PDGFBB en el PRP y sus subproductos en sujetos sanos tratados con antiagregantes plaquetarios y su correlación con el recuento plaquetario. Así como determinar si el uso profiláctico de dichas drogas puede modificar de manera importante la concentración de los factores de crecimiento en el PRP; si no es así, permitiría recomendar el uso del PRP en pacientes en quienes se indiquen estas drogas con el fin de disminuir el riesgo de formar trombos. Esta investigación espera contribuir a un mejor entendimiento del empleo efectivo del PRP en diversos procedimientos médicos, como una estrategia novedosa al servicio de la terapéutica médica en general.

Métodos

El Diseño del presente estudio es de Campo, el tipo es Experimental y Longitudinal (23)

La población objeto de estudio, estuvo conformada por todos los sujetos adultos, de ambos sexos, aparentemente sanos, que acudieron al Instituto de Investigaciones Clínicas "Dr. Américo Negrette" de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. Esta población es de carácter finita, es decir, menos de 100 mil sujetos (23)

La muestra se calculó de manera no aleatoria e intencionada (23), correspondió a 32 sujetos. Los criterios de selección que se tomaron en cuenta fueron los siguientes:

Inclusión:

- Edad entre 18 y 50 años.
- En ayunas.
- Sin enfermedad clínica de base conocida.
- Aparentemente sanos.
- Resultados normales en el estudio de agregación plaquetaria que se realice antes de la

ingestión de las drogas antiplaquetarias que se utilizarán en este estudio.

Exclusión:

- Haber ingerido antiagregantes plaquetarios 11 días antes del estudio.

Para disminuir el sesgo de la muestra, en el muestreo la técnica que se utilizó correspondió a los 32 primeros sujetos que cumplieron con todos los criterios de inclusión y que deseaban participar en este estudio.

Todos los sujetos fueron sometidos a un examen clínico y de laboratorio exhaustivo, con el fin de descartar enfermedades sistémicas. Estos se distribuyeron de la siguiente manera:

- Grupo A: 32 sujetos sin tratamiento previo con drogas antiagregantes plaquetarias. Estos mismos conformaron el Grupo B.
- Grupo B: se dividió a su vez en dos subgrupos:
 - o B1: constituidos por 16 sujetos que recibieron aspirina a una dosis de 100 mg una sola por un día.
 - o B2: 16 individuos quienes recibieron Clopidogrel a una dosis de 75 mg en dosis única un solo día.

Tanto a los sujetos del grupo A como B (a las 24 horas del consumo del fármaco respectivo), en ayunas, previa asepsia de la zona se les extrajo 16 mL de sangre venosa antecubital, para ello se utilizó mariposas No 21 empleando la técnica de la doble jeringa para evitar la activación de las plaquetas.

La primera jeringa contenía 2,5 mL de sangre que fue dispensada en tubos de vidrio con EDTA para estudio de Hematología, recogiendo los datos concernientes a plaquetas y glóbulos blancos, empleando un contador automático de células BeckmanCoulter AC-T.

La segunda jeringa contenía 13,5 mL de sangre venosa, que se distribuyó como se describe a continuación:

1. 4,5 mL se dispensaron en un tubo plástico que contenía citrato de sodio al 3, 8% y se centrifugó a 800 rpm (180 g) durante 10 minutos a temperatura ambiente para obtener PRP; luego el remanente de cada muestra, se centrifugó a 4500 rpm durante 20 minutos, en centrifuga refrigerada (Sorvall), para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP). Para realizar la agregación plaquetaria (solo antes del tratamiento con el antiagregante), la concentración de plaquetas se ajustó a $250 \times 10^9/L$ con el PPP. La prueba de agregación en las muestras se realizó utilizando 0,45 mL del PRP y se le adicionó los siguientes inductores: ADP (Adenosina 5 Difosfato): $5 \times 10^{-6} M$ (concentración final: 2,14 $\mu g/mL$), Colágeno: $1,2 \times 10^{-2} M$ (concentración final:

3 µg/ml), Epinefrina: $0,6 \times 10^{-4}$ M (concentración final: 11 µg/mL), Ristocetina: $5,5 \times 10^{-4}$ M (concentración final: 1,2 µg/mL). La agregación se realizó según el método turbidimétrico de Born (24) empleando un agregómetro Chrono-log (Corp. Haverton, PA. USA). El resultado obtenido se expresó en porcentaje.

2. 9 mL de la muestra se colocaron en otro tubo plástico que contenía 1 ml de citrato de sodio al 3,8% y fueron sometidos a centrifugación, en centrífuga clínica a una velocidad de 1400 rpm por 7 minutos a 267 G y siguiendo la técnica de Anitua (18) para la obtención de PRP. Del volumen total obtenido en el PRP se extrajeron 0,5 mL que correspondió a Plasma Pobre en Plaquetas (PPP). El resto (PRP) se tomó con un pipeteado muy meticuloso y con una punta distinta, hasta la zona que se encuentra por encima de la fracción roja, 1 ml del volumen total del PRP se alicuotó para recuento de plaquetas y medición de FC. A 1 ml del PRP obtenido se le adicionó 50 µl de Cloruro de Calcio al 10 % (CaCl_2), se mezcló y se dejó reposar por 15-30 minutos para obtener el PRP gelificado, a este se le sometió a centrifugación a 2500-3000 rpm por 10 minutos, para obtener un exudado (Ex).

El PPP, PRP sin activar y el exudado del PRP gelificado, se distribuyeron en alícuotas y se almacenaron en tubos plásticos Eppendorf® a $-70\text{ }^\circ\text{C}$ en un ultracongelador vertical (Forma Scientific U95-18), lugar donde se conservaron hasta el análisis del FC, empleando la técnica de Inmunoensayo Enzimático (ELISA) (25).

Los niveles del factor de crecimiento PDGFBB se midieron en muestras y estándares empleando el método de ELISA cuyos kits fueron suministrados por Abcam (ABCAM INC, CAMBRIDGE, USA: 1 Kendall Square, Ste B2304 Cambridge, MA 02139-1517 USA) con número de lote: GR 85403-1, GR85404-1 y GR

56644-1, fueron ejecutados de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Valores Referenciales

Se consideraron los valores referenciales para plaquetas entre 150.000 a 450.000 $\times\text{ mm}^3$ en sangre periférica (26).

Para la tabulación y el análisis de los resultados que se obtuvieron, se utilizó la estadística respectiva. Los datos se muestran en tablas y gráficos (según se consideró) en valores absolutos y porcentajes, así como media \pm 1 desviación estándar. Para la comparación de las variables en estudio se utilizó la prueba t de student, se consideró $p < 0,05$ como la menor probabilidad y para el estudio de correlación se aplicó la prueba de Pearson (27).

A todos los sujetos se les requirió consentimiento informado por escrito antes de ser incluidos en el estudio, y se les identificó a través de números, se contó así mismo, con la aprobación del Comité de Ética de la institución (Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, LUZ) y se procedió de acuerdo a los principios de la declaración de Helsinki de 1975 (actualizada en el 2000), y las recomendaciones elaboradas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Medicas (CIOMS) en el 2002 (28).

Resultados

En la tabla 1 se muestran los valores promedio, desviación estándar y rango del recuento de plaquetas en sangre periférica y en el PRP de los sujetos sanos estudiados antes y después del tratamiento con antiagregantes plaquetarios. Se observa que el recuento plaquetario promedio en

Tabla 1. Valores promedio, desviación estándar y rango de las plaquetas antes y después del tratamiento con aspirina (AAS) y clopidogrel

Muestra	Promedio \pm desviación estándar (rango)		
	Antes	AAS	CLO
Plaquetas $10^3 \times \text{mm}^3$ Sangre Periférica	272,28 \pm 69,66 (150-379) n = 32	-	-
PRP $10^3 \times \text{mm}^3$	505,40 \pm 140,83 (316 - 740) n = 32	566,86 \pm 109,16 (405 - 784) n = 16	435,22 \pm 108,48 (333 - 620) n = 16
p	^a < 0.0001 (t = 1.484)	^b NS (t = 0.2866)	^c < 0, 05 (t = 0.3277) ^d < 0, 001 (t = 0.8554)

n: numero de sujetos estudiados; a: plaquetas sangre periferica antes vs prp antes; b: prp antes vs prp con aas; c: prp antes vs prp con clopidogrel; d: prp con aas vs prp con clopidogrel.

sangre periférica se situó en $272,281 \pm 69,66 \times 10^3 \times \text{mm}^3$, el cual se encuentra dentro del rango referencial.

Por otro lado, los valores del conteo plaquetario en PRP antes del tratamiento respectivo ($505,40 \pm 140,83 \times 10^3 \times \text{mm}^3$) presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) cuando se comparan con las cifras de sangre periférica.

mm³) vs el grupo del Clopidogrel ($435,22 \times 10^3 \times \text{mm}^3$), se halló diferencias estadísticamente significativas a favor del AAS ($p < 0,001$).

La tabla 2 muestra una comparación de las concentraciones de PDGFBB en el PRP y sus subproductos antes y después del tratamiento con AAS/Clopidogrel. Los niveles basales de PDGFBB se situaron en promedio y desviación estándar en $10,68 \pm 1,9 \text{ ng/ml}$, $12,12 \pm 2,51 \text{ ng/ml}$ y $10,84 \pm 1,68 \text{ ng/ml}$ para el PPP, PRP y exudado respectivamente vs $8,96 \pm 1,4 \text{ ng/ml}$, $11,36 \pm 2,48 \text{ ng/ml}$ y $11,11 \pm 1,14 \text{ ng/ml}$ después del tratamiento con AAS. Encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) solo para el PPP, pero no para el PRP y el exudado. Además se observó una disminución de los niveles de PDGFBB en dos de los 3 productos plaquetarios 24 horas después del tratamiento.

Así mismo, se observa la comparación de las concentraciones de PDGFBB para el PRP y sus subproductos antes y después de la administración de Clopidogrel. Los niveles promedio y desviación estándar del factor de crecimiento medido luego del tratamiento se situaron en $8,53 \pm 0,59 \text{ ng/ml}$ (PPP), $9,65 \pm 1,17 \text{ ng/ml}$ (PRP) y $8,51 \pm 0,75 \text{ ng/ml}$ (exudado). Al comparar estos valores con los basales se notó una disminución estadísticamente significativa de los niveles de PDGFBB en todos los productos (PPP y exudado: $p < 0,0001$, PRP: $p < 0,0005$).

La tabla 3 muestra un cuadro comparativo de los niveles plasmáticos de PDGFBB en el PPP, PRP y Exudado de sujetos sanos después del tratamiento con AAS vs Clopidogrel. Se observa que los valores promedio y desviación estándar de PDGFBB en el grupo tratado con AAS vs Clopidogrel fueron de $8,96 \pm 1,4 \text{ ng/ml}$ y $8,53 \pm 0,59 \text{ ng/ml}$ para el PPP, de $11,36 \pm 2,48 \text{ ng/ml}$ y $9,65 \pm 1,17 \text{ ng/ml}$ para el PRP, y en cuanto al exudado fueron de $11,11 \pm 1,14 \text{ ng/ml}$ y $8,51 \pm 0,75 \text{ ng/ml}$ respectivamente. Al comparar los resultados por subproducto plaquetario, se encontró diferencias estadísticamente significativas para el PRP ($p < 0,005$) y el exudado ($p < 0,0001$). Se advierten niveles más elevados de PDGFBB en todos los productos plaquetarios luego de la administración de AAS que en los del Clopidogrel.

La tabla 4 muestra la correlación entre el recuento plaquetario de sangre periférica y PRP con respecto a los niveles de PDGFBB antes del tratamiento de los sujetos sanos analizados en este estudio. No se encontró correlación entre el número de plaquetas tanto en sangre periférica como en el PRP con los valores promedio de PDGFBB basales ($r = 0,07$ y $r = 0,008$ respectivamente).

Tabla 2. Concentración de PDGF en el PRP y sus subproductos en sujetos sanos, antes y después del tratamiento con AAS y Clopidogrel (C)

Muestra	PDGFBB (ng/ml) Promedio \pm Desviación Estándar (rango)	p
PPP Basal n= 32	$10,68 \pm 1,9$ (8,54-15,25)	
PPP con AAS n=16	$8,96 \pm 1,4^a$ (7,6-11,13)	<0,001
PPP con C n=16	$8,53 \pm 0,59^d$ (7,56-9,22)	< 0,0001
PRP Basal n= 32	$12,12 \pm 2,51$ (9,16-16,86)	
PRP con AAS n=16	$11,36 \pm 2,48^b$ (9,0-17,68)	NS
PRP con C n=16	$9,65 \pm 1,17^e$ (8,01-11,56)	< 0,0005
Ex Basal n= 32	$10,84 \pm 1,68$ (9,2-13,69)	
Ex con AAS n=16	$11,11 \pm 1,14^c$ (9,0-13,13)	NS
Ex con C n=16	$8,51 \pm 0,75^f$ (6,71-9,74)	< 0,0001

NS: No significativo; n: numero de sujetos estudiados; AAS: acido acetil salicilico; a: PPP basal vs PPP con AAS; b: PRP basal vs PRP con AAS; c: EX basal vs EX con AAS; d: PPP basal vs PPP con C; e: PRP basal vs PRP con C; f: EX basal vs EX con C.

Así mismo, se muestran las cifras de plaquetas en el PRP obtenido 24 horas después del tratamiento, encontrándose diferencias estadísticamente significativas para el grupo del Clopidogrel (C) frente al PRP basal ($566,86 \times 10^3 \times \text{mm}^3$ AAS y $435,22 \times 10^3 \times \text{mm}^3$ C), también se observa un aumento del conteo plaquetario en el grupo del AAS que resultó no significativo. Ahora cuando se comparó las cifras de plaquetas en el PRP del grupo del AAS ($566,86 \times 10^3 \times$

Tabla 3. Concentración de PDGFBB en el PRP y sus subproductos en sujetos sanos después del tratamiento con AAS y clopidogrel (C)

Muestra	PDGFBB (ng/ml) Promedio ± Desviación Estándar (rango)	p
PPP con AAS n=16	8,96± 1,4 ^a (7,6-11,13)	NS
PPP con C n=16	8,53 ± 0,59 (7,56-9,22)	
PRP con AAS n=16	11,36± 2,48 ^b (9,0-17,68)	< 0,005
PRP con C n=16	9,65 ± 1,17 (8,01-11,56)	
Ex con AAS n=16	11,11± 1,14 ^c (9,0-13,13)	< 0,0001
Ex con C n=16	8,51 ± 0,75 (6,71-9,74)	

n: Numero de sujetos estudiados; NS: no significativo;
a: PPP con AAS vs PPP con C; b: PRP con aas vs PRP con C, c: EX con AAS vs EX con C

Tabla 4. Correlación del recuento plaquetario en sangre periférica y PRP de los sujetos sanos estudiados con los niveles de PDGFBB antes del tratamiento

Plaquetas (10 ³ x mm ³)	Niveles promedio ± Desviación Estándar de PDGFBB (Basal)	Correlación (r)
272,28±69,66 Sangre Periférica n=32	12,12 ± 2,51	^a 0,07 (NS)
505,40 ± 140,83 PRP (Basal) n=32	12,12 ± 2,51	^b 0,008 (NS)

n: Numero de sujetos estudiados; NS: no significativo;
a: Plaquetas sangre periferica antes vs niveles de PDGF en PRP antes; b: plaquetas en PRP antes vs niveles de PDGF en PRP antes.

Discusión

El PRP contiene factores de crecimiento como el PDGFBB, EGF, VEGF, IGF-1, TGF-β1, entre otros, la mayor parte de ellos como resultado de la secreción de los gránulos α de las plaquetas durante su activación. El PDGFBB es uno de los mitógenos más potentes con acción efectiva sobre el tejido conectivo. Su secreción durante la agregación plaquetaria y la coagulación, puede llegar a estimular la quimiotaxis y la multiplicación celular, de allí su rol protagónico en la regeneración tisular (29).

En el presente estudio, en lo que a las cifras de recuento plaquetario en sangre periférica antes del tratamiento antiagregante plaquetario se refiere, se observa que se encuentran dentro del rango referencial (tabla 1) (26). Se nota que estos valores son similares a los obtenidos por otros autores, entre los cuales es importante mencionar, el estudio de Weibrich y col (2002), en el que se determinó los niveles de FC en el PRP obtenido mediante dos métodos comerciales y en el cual los valores promedio de recuento plaquetario en sangre periférica fueron de $260 \pm 57,5 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (30-36).

Así mismo, en lo que respecta a los valores promedio del conteo plaquetario en el PRP antes del tratamiento, estos se situaron en $505,40 \pm 140,83 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (C); encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) cuando se comparó con las cifras de sangre periférica, con respecto a la cual hubo un incremento en las cifras plaquetarias de 1,2 a 2,72 veces, dicho incremento se encuentra dentro de las cifras esperadas para el protocolo de una centrifugación de Anitua (18, 37) y de acuerdo con la definición de PRP enunciada en la literatura (5). Estos valores resultaron comparables con las cifras plaquetarias obtenidas por diversos autores empleando diferentes métodos de obtención del PRP; entre los cuales se encuentra el trabajo realizado por Castillo T y col (2011), quienes llevaron a cabo un estudio comparativo de los niveles de FC en PRP obtenido por diversos sistemas comerciales de separación, obteniendo conteos plaquetarios promedio con dos de estos sistemas de $566,2 \pm 292,6 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (método GPS) y $443,8 \pm 24,7 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (método Magellan). (32, 33, 38).

En lo referente a las cifras de plaquetas obtenidas en el PRP luego de 24 horas del tratamiento con Clopidogrel, se encontró una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$), si se compara con los valores promedio antes del tratamiento. Este

comportamiento no se observó para la AAS, esto permitiría inferir que algunos fármacos antiagregantes como el AAS en dosis única (por una vez), no parecen afectar sensiblemente el número de plaquetas de los sujetos estudiados, lo cual es explicable, ya que se conoce que el recambio plaquetario en condiciones normales después de la administración de esta droga, es de aproximadamente 7 días (39).

Así mismo, cuando se contrastaron las cifras plaquetarias del PRP en el grupo del AAS vs C, se observa que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), con un aumento del conteo plaquetario en el grupo del AAS frente a una disminución para el grupo del Clopidogrel, tratados en dosis únicas para ambos medicamentos. Estos resultados permiten inferir que el C pareció afectar sensiblemente el recuento plaquetario, lo cual merece estudios posteriores con un mayor número de muestras. Estos hallazgos discrepan de los obtenidos por Hayasaka M y col en 2013, quienes realizaron un estudio comparativo de la afectación de los parámetros hematológicos en dos grupos de pacientes tratados por dos meses con aspirina + clopidogrel y aspirina solamente. Estos investigadores no hallaron diferencias significativas en lo que al conteo plaquetario (basal y post tratamiento) se refiere, pero sí para la cuenta roja, blanca hemoglobina y hematocrito (40).

Cuando se compararon las concentraciones de PDGFBB determinadas en el PRP y sus subproductos, antes y después del tratamiento con AAS/Clopidogrel (tabla 2), en lo que respecta al grupo del AAS, se halló diferencias significativas para el PPP ($p < 0,001$), no así para el PRP y exudado, prevaleciendo una sensible disminución de los niveles del FC en 2 de los 3 productos (PPP y PRP) derivados de las plaquetas analizados luego del tratamiento.

Los valores promedio de PDGFBB basales fueron más elevados en el subproducto PRP y no en el exudado como se esperaría, estos resultados se apoyan en aquellos obtenidos por Passaretti F y col en 2013, quienes compararon el aporte de FCs por parte del PRP y el PRF (Plaquetas ricas en Fibrina), encontrándose en el PRF (que es el equivalente al exudado de esta investigación), niveles de PDGF dos veces menor que en el PRP (41), posiblemente esto sucede porque el PRP es el producto derivado de las plaquetas donde existe la mayor concentración de estas células, y que a pesar que no se activo con Calcio su sometimiento a congelación profunda hizo que las plaquetas sufrieran activación, y la descongelación posterior (42) para analizar el FC provocó además la lisis completa de las mismas presentes en el PRP con la

consecuente secreción total de los FCs entre ellos el PDGF. A diferencia del exudado que es un suero que aporta el gel que se generó por la activación del PRP con Calcio; durante la formación del gel tanto plaquetas como una concentración indeterminada de FCs quedan atrapados, permaneciendo por tanto en el suero un remanente de los mismos al igual que un número muy limitado o escaso de plaquetas. Es importante resaltar, que estos datos se observan cercanos y son resultado de un trabajo experimental, sin embargo, no dejan de ser notables y se convierten en punto de partida para nuevos estudios con una data más numerosa.

Ahora en lo que respecta a los niveles de PDGF en el PPP antes del tratamiento, estos son elevados al compararlos con los reportados en la literatura; sin embargo, en este trabajo se siguió estrictamente el protocolo de Anitua de una sola centrifugación que contempla que los primeros 0,5 cc de la fase plasmática más superficial obtenida luego del procedimiento se considera PPP, y esta fue la analizada a pesar de que se corroboró que su recuento plaquetario promedio era de $375,14 \pm 112,6 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ y por tanto no era tan pobre como se presume en la técnica original; por lo cual se desestimó que se haya provocado la activación plaquetaria durante la obtención del mismo y que esta sea responsable de los niveles elevados del FC.

Los niveles de PDGFBB obtenidos para el PRP, PPP y exudado basales, se compararon con aquellos hallados en otros estudios, y guardando las diferencias en lo que al método de obtención del PRP y marco metodológico de los trabajos reportados se refiere, se puede concluir que existen similitudes y aproximación entre los resultados aquí obtenidos y los reportados en otros estudios, como el de Weibrich y col. en el 2002. Estos autores determinaron los niveles de PDGFBB y otros FCs en PRP de donantes de sangre, obteniendo valores promedio de $10 \pm 8 \text{ ng/ml}$ para dicho factor (30-32, 34, 35, 38, 43, 44)

Lo anteriormente descrito sugiere que a pesar de que se aplicó la misma técnica para determinar el FC (ELISA), la falta de estandarización de los diferentes kits comerciales disponibles hace difícil la homologación de los resultados aun cuando se base en el mismo principio (45).

Los niveles promedio de PDGFBB en el PRP y sus subproductos antes y después de la administración de Clopidogrel (Tabla 2), arrojaron diferencias estadísticamente significativas para el PRP ($p < 0,0005$), PPP y Exudado ($p < 0,0001$); observándose valores más bajos que los hallados en estos especímenes luego de la administración de AAS. Estos resultados podrían

estar revelando un mayor nivel de afectación de la capacidad de producción de PDGF por parte de los subproductos plaquetarios de los sujetos tratados con Clopidogrel. Se mantuvo la constante de que las mayores concentraciones de PDGFBB se presentaron en el PRP tanto antes como después del tratamiento, además los niveles promedio de PDGFBB antes del tratamiento fueron similares a los reportados por otros investigadores cuyos valores oscilaron entre 2,3 y 37 ng/ml. Entre dichos estudios, vale la pena mencionar el realizado por Christgau M y col (2006), quienes evaluaron los niveles de FC y citocinas en concentrados plaquetarios de donantes de sangre estableciendo su correlación con la regeneración periodontal. En este estudio los niveles de PDGFBB se situaron en $15,8 \pm 7,9$ ng/ml, considerándose dichos niveles elevados (30, 31, 35, 43, 44).

Al comparar la concentración de PDGFBB en el PPP, PRP y exudado de los sujetos estudiados con tratamiento de AAS vs Clopidogrel (Tabla 3), se observa que para el PRP y exudado se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,005$ y $p < 0,0001$) y no para el PPP. Se nota que los niveles del FC son más elevados en los diferentes subproductos plaquetarios del grupo del AAS, en contraste con los del grupo de Clopidogrel. Lo que parece revelar un menor grado de afectación de los niveles de PDGFBB en las muestras de los sujetos tratados con AAS en comparación con el grupo del Clopidogrel. Se infiere que estas diferencias pueden deberse en parte al mecanismo de acción farmacológica específico que cada fármaco posee; siendo en el caso del AAS la inhibición selectiva e irreversible de la ciclooxigenasa (COX) mediante la acetilación de su centro activo, su efecto suele durar de 7 a 10 días.

En el PRP, el AAS puede bloquear completamente la agregación plaquetaria inducida por el Acido araquidónico (AA) y reducir en parte la activación plaquetaria inducida por colágeno, ADP, epinefrina y el Factor Activante plaquetario (PAF). Por otra parte, las tienopiridinas entre las cuales se encuentra el Clopidogrel, ejercen su función principal bloqueando el receptor de ADP conocido como P2Y, inhiben la secreción de los gránulos α que son ricos en FCs e interfieren con el receptor plaquetario del fibrinógeno: (gIIb-IIIa), impidiendo la vía de mayor amplificación de la agregación plaquetaria, lo cual pudo haber alterado la secreción de PDGF principalmente en el grupo de Clopidogrel (2, 39, 46, 47).

Es importante resaltar que en la literatura revisada, no se encontró trabajos científicos que hubiesen llevado a cabo las determinaciones de

PDGFBB posterior a los tratamientos aquí utilizados; por lo cual no se pudo establecer comparación alguna con otra experiencia similar. Esta observación hace inéditos los resultados obtenidos en la presente investigación.

No se encontró correlación entre el recuento plaquetario de sangre periférica y del PRP basal con respecto a los niveles promedio de PDGFBB antes del tratamiento (tabla 4). Estos resultados coinciden con los reportados por Weibrich y col., quienes afirman que este hecho es explicable por la alta variabilidad individual que existe en la producción celular y almacenamiento de los FCs en las plaquetas. El contenido de FCs en los individuos podría estar influenciado por otras células diferentes de las plaquetas como leucocitos, esto significa que cada individuo necesitaría diferentes concentraciones de plaquetas para lograr un efecto biológico comparable. De manera tal, que el conteo de plaquetas en sangre periférica o PRP no es un factor predictivo de los valores de FCs en el PRP (30, 34).

Otro reporte que coincide con los hallazgos que en este trabajo se describen, es el de Eppley B y col (2004) quienes realizaron la cuantificación de plaquetas y diversos FCs en el PRP de sujetos antes de cirugía plástica y que, al igual que el estudio que aquí se presenta, no encontró correlación alguna para ninguno de los FCs analizados (31).

Sin embargo, es importante acotar, que para analizar a profundidad una correlación más concluyente se necesitaría diseñar nuevos experimentos que permitiesen comparar el recuento plaquetario y los niveles de PDGF obtenidos a partir de diversos PRP provenientes de varios protocolos de centrifugación diferencial.

Finalmente se concluye que los cambios observados en el recuento plaquetario de los sujetos estudiados luego de la administración de los antiagregantes plaquetarios, y en particular en el grupo del Clopidogrel; no se situó por debajo de la media del rango referencial ($300 \times 10^3 \times \text{mm}^3$), lo cual permite inferir que esta variación no debería ser atribuible a la acción en dosis única del fármaco empleado, y si con mayor probabilidad se deba a variaciones fisiológicas de la población que se ubican dentro de los valores referenciales reportados para las plaquetas.

Por otro lado, con respecto a los niveles de PDGFBB obtenidos en los sujetos objeto de estudio, estos se hallaron en niveles considerablemente elevados antes del tratamiento y aunque experimentaron una disminución en algunos casos estadísticamente significativa luego de la

administración del antiagregante plaquetario y en particular luego del Clopidogrel, este descenso no fue pronunciado considerándose por tanto, que el empleo de una dosis única de estos fármacos no pareció afectar sensiblemente la secreción de este FC por parte de las plaquetas de los sujetos estudiados.

Es de hacer notar, que el empleo de otros protocolos de centrifugación diferencial que utilicen más de una centrifugación para obtener el PRP, pudieran contribuir a obtener PRP y subproductos del mismo más concentrados que a su vez podrían contener mayores niveles de los FCs.

Nuevos trabajos se necesitan para aclarar si un tratamiento prolongado con estos fármacos antiagregantes en una población más numerosa pudiese alterar marcadamente el recuento plaquetario y los niveles del FC en el PRP y sus subproductos, lo

cual podría afectar el empleo del PRP autólogo en tratamientos médicos diversos.

Agradecimiento

Esta investigación fue financiada por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES), a través del proyecto VAC-CONDES-CC-0019-12. Los autores agradecen la dotación de materiales reactivos y equipo necesario para la ejecución de este trabajo de investigación. Así mismo, se contó con la colaboración del Laboratorio de Hematología del Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette de la Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, en cuyos laboratorios se llevó a cabo el análisis de las muestras recolectadas.

Referencias

1. Freymiller EG. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62:1046. [\[PubMed\]](#)
2. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev* 2009; 23:177-89. [\[PubMed\]](#)
3. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med.* 2009; 37: 2259-72.. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
4. Anitua E, Sánchez M, Prado R, Orive G. Plasma rich in growth factors: The pioneering autologous technology for tissue regeneration. *J Biomed Mater Res A.* 2011; 15: 97:536. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
5. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 93-103. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
6. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification Growth Factors levels using a simplified method of Platelet Rich Plasma Gel Preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58: 297-300. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
7. Fernández-Barbero JE, Galindo-Moreno P, Avila-Ortiz G, Caba O, Sánchez-Fernández E, Wang HL. Flow cytometric and morphological characterization of platelet rich plasma gel. *Clin Oral Implants Res.* 200;17: 687-93.. [\[PubMed\]](#)
8. Anitua E, Andía I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zalduendo M, de la Fuente M, Nurden P, Nurden AT. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005 ;23:281-6.. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
9. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials.* 2007; 28:4551-60. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
10. Im MJ, Kim YS, Edwards RJ, Hoopes JE, Fenselau A. The effect of bovine basic fibroblast growth factor on skin flap survival in rats. *Ann Plast Surg* 1992; 28: 242-5. [\[PubMed\]](#)
11. Whitman DH, Berry RL Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with application in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55: 1294-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
12. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan S, Dohan J, Mouhyi J. and Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: e45-50. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
13. Cannata JB, eds. Actualizaciones en metabolismo óseo. Madrid, España: Jarpvo Editores 1992.
14. Kawase T, Okuda K, Saito Y, Yoshie H. In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming factor-beta or platelet-derived growth factor. *Periodontol* 2005; 76: 760-7. [\[PubMed\]](#)
15. Antoniades HN. Human platelet-derived growth factor (PDGF): purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981; 78: 7314-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
16. González LJ. Plasma Rico en plaquetas. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac* 2006; 28: 89-99. [\[Google Scholar\]](#)
17. Beca T, Hernández G, Morante S, Bascones A. Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. *Av Periodon Implantol* 2007; 19: 39-52. [\[Google Scholar\]](#)
18. Anitua E. La utilización de los factores de crecimiento plasmáticos en cirugía oral, maxilofacial y periodoncia (PRGF). *RCOE* 2001; 6: 305-15. [\[Google Scholar\]](#)
19. Ackerman R H, Newman K L. Incomplete end-point effects in patients on aspirin compounds. *Ann Neurol* 1990; 28: 224.
20. Roth GJ, Stanford N, Majerus PW. Acetilation of prostaglandin synthetase by aspirin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3073-6. [\[PubMed\]](#) [\[Googla Scholar\]](#)
21. Defrey G, Bernat A, Delebasse D, Maffrand JP. Pharmacology of ticlopidine: a review. *Semin Thromb Hemost* 1989; 15: 159-66. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
22. Féliste R, Delebassée D, Simon MF, Chap H, Defrey G, Vallée E, Douste-Blazy L, Maffrand JP. Broad spectrum anti-platelet activity of ticlopidine and PCR 4099 involves the suppression of

- the effects of released ADP. *Thromb Res* 1987; 48: 403-15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Tamayo y Tamayo M. El proceso de la Investigación científica: incluye evaluación y administración de proyectos de investigación. Limusa Noriega Editores, Tercera Edición México, 2005. [[Google Scholar](#)]
 24. Born GV, Cross MJ. The aggregation of the blood platelets. *J Physiol* 1963; 168: 178-95. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 25. Engvall E, Perlman P. Immunosorbent Assay. *Immunochem* 1971; 8: 871-4. [[PubMed](#)]
 26. Beutler E, Lichtman M. Williams hematology. 5th ed. New York USA: McGraw-Hill, 1995.
 27. Daniel WW. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa. México, DF, 1991.
 28. Instituto Venezolano de Investigaciones Clínicas, IVIC. Consentimiento informado. Disponible en: www.ivic.gob.ve/bioetica Actualizado hasta 25 de Mayo 2012. Consultado el 26 Junio 2012.
 29. Ledent E, Wasteson A, Berlin G. Growth factor release during preparation and storage of platelet concentrates. *Vox Sang* 1995; 68:205-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 30. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factors levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex and platelet count. *J Cr Maxill F Surg* 2002; 30:97-102. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 31. Eppley BL, Woodwell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114:1502-8. [[PubMed](#)]
 32. Castillo TN, Pouliot MA, Kim HJ, Drago J. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med* 2011; 39: 266-71. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 33. Okuda K, Kawase T, Momose M, Murata M, Saito Suzuki H, Wolff LF, Yoshie H. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor- β and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol* 2003; 74:849-57. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 34. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: Curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 184-90. [[PubMed](#)]
 35. Christgau M, Moder D, Hiller KA, Dada A, Schmitz G. Growth factors and cytokines in autologous platelet concentrate and their correlation to periodontal regeneration outcomes. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 837-45. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 36. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Wagner W. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Implants Res*. 2003; 14: 357-62. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 37. Lorente Pérez-Sierra A, Rodríguez Escudero F. ¿Conseguimos plasma concentrado rico en plaquetas de forma ambulatoria? *Cient Dent* 2005; 2: 73-8. [[Google Scholar](#)]
 38. Leitner GC, Gruber R, Neumüller J, Wagner A, Kloimstein P, Höcker P, Körmöczy GF, Buchta C. Platelet content and growth factors release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox Sang* 2006; 91:135-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 39. Molina V, Arruzazabala L, Carbajal D, Más R. Farmacología de los agentes antiagregantes plaquetarios. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 2005; 36: 3-12.
 40. Hayasaka M, Takahashi Y, Nishida Y, Yoshida Y, Hidaka S, Asai S. Comparative effect of clopidogrel plus aspirin and aspirin monotherapy on hematological parameters using propensity score matching. *Vasc Health Risk Manag* 2013; 9: 65-70. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 41. Passaretti F, Tia M, D'Esposito V, Pascale MD, Corso MD, Sepulveres R, Liguoro D, Valentino R, Beguinot F, Formisano P, Sammartino G. Growth-promoting action and growth factor release by different platelet derivatives. *Platelets*. 2013, 15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 42. Mateo de Acosta Andino DA, Porres Aguilar M, Vázquez Saldaña DG, Makipour Jr. J, Bedolla E. Actualización bibliográfica sobre el uso de preparaciones ricas en plaquetas en la cicatrización de heridas. *Cir. Plást. Ibero-latinoam*. 2010; 36:231-8. [[Google Scholar](#)]
 43. Schmidmaier G, Herrmann S, Green J, Weber T, Scharfenberger A, Haas NP, Wildemann B. Quantitative assessment of growth factors in reaming aspirate, celiac crest and platelet preparation *Bone* 2006; 39:1156-63. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 44. Zimmermann R, Jakubietz R, Jakubietz M, Strasser E, Schlegel A, Wiltfang J, Eckstein R. Different preparation methods to obtain platelet components as a source growth factors for local application. *Transfusion* 2001; 41: 1217-4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 45. Fahey JL, Aziz N, Spritzler J, Plaeger S, Nishanian P, Lathery JL, Seigel J, Landay AL, Kilarui R, Schmitz JL, White C, Wara DW, Akridge R, Cutilli J, Douglas SD, Reuben J, Shearer WT, Nokta M, Pollard R, Schooley R, Asthana D, Mizrachi Y, Waxdal M. Need for an external proficiency testing program for cytokines, chemokines, and plasma markers of immune activation. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 540-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 46. Altman R. ¿Tiene implicancias clínicas la resistencia a la aspirina y/o clopidogrel? *Rev Fed Arg Cardiol* 2010; 39:1-6. [[Google Scholar](#)]
 47. Schrör K. The basic pharmacology of ticlopidine and clopidogrel. *Platelets* 1993; 4:252-61 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar éste artículo:
 González M, Arteaga-Vizcaíno M, Ruiz A, Briceño O, Quintero M, Atencio R, Benito M, Benito M Flores R. Niveles del factor de crecimiento derivado de plaquetas en el plasma rico en plaquetas antes y después de antiagregantes plaquetarios *Avan Biomed* 2013; 2: 127-36.